

EL AGUA OXIGENADA Y EL ÓXIDO NÍTRICO, PEQUEÑAS MOLÉCULAS FRENTE A UN GRAN RETO: LA SUPERVIVENCIA

por SANDALIO L.M.¹, PELÁEZ-VICO M.A.², ROMERO-PUERTAS M.C.¹

¹DEPARTAMENTO DE ESTRÉS, DESARROLLO Y SEÑALIZACIÓN EN PLANTAS. ESTACIÓN EXPERIMENTAL DEL ZAIDÍN-CSIC, GRANADA, SPAIN. ²DIVISION OF PLANT SCIENCES AND TECHNOLOGY, COLLEGE OF AGRICULTURE FOOD AND NATURAL RESOURCES AND INTERDISCIPLINARY PLANT GROUP, UNIVERSITY OF MISSOURI, COLUMBIA, MO, USA

LUISAMARIA.SANDALIO@EEZ.CSIC.ES

Resumen: Las plantas están continuamente expuestas a agresiones como cambios bruscos de temperatura, sequía o encharcamiento, suelos contaminados con compuestos tóxicos, enfermedades por bacterias y hongos, etc., de las que no pueden escapar, porque no se pueden desplazar, y por tanto, han tenido que desarrollar sistemas eficientes que les permitan identificar cuál es el daño y decidir cuál es la respuesta más adecuada para cada situación. Aunque esta respuesta puede ser muy compleja, solo vamos a hablar de unas pequeñas moléculas que participan tanto en la detección de los daños como en la transmisión, dentro de una misma célula y entre diferentes células, de la información necesaria para hacer frente a esa situación. Estas pequeñas moléculas son el agua oxigenada o peróxido de hidrógeno (H₂O₂), y el óxido nítrico (NO).

Abstract: *Plants are continually exposed to attacks such as sudden changes in temperature, drought or waterlogging, diseases caused by bacteria and fungi, among others, from which they cannot escape, because they cannot move, and therefore, they have had to develop efficient systems that allow them to identify what the damage is and decide what is the most appropriate response for each situation. Although this response can be very complex, we are only going to talk about some small molecules that participate both in the detection of damage and in the transmission, within the same cell and between different cells, of the information necessary to deal with that situation. These small molecules are hydrogen peroxide (H₂O₂), and nitric oxide (NO).*

Palabras clave: aclimatación, autofagia, especies de oxígeno reactivo, estrés, expresión génica, modificaciones postraduccionales de proteínas, óxido nítrico, peróxido de hidrógeno, señalización.

Keywords: acclimatization, autophagy, reactive oxygen species, stress, gene expression, protein post-translational modifications, nitric oxide, hydrogen peroxide, signaling.

Introducción

El agua oxigenada (H₂O₂) es una especie reactiva de oxígeno (ROS, del inglés *reactive oxygen species*) y es una molécula muy cotidiana, bien conocida por su uso como desinfectante, para limpiar lentillas, blanquear los dientes o para quitar manchas de la ropa. El óxido nítrico (NO), no tan conocido, es un radical libre gaseoso que puede atravesar las membranas biológicas. No obstante, estas moléculas son la base del lenguaje de las células y se están formando continuamente en la célula, en numerosas reacciones químicas dentro de distintos orgánulos como los cloroplastos, las mitocondrias, etc., (figura 1) (Smirnov y Arnaud, 2019; Phua *et al.*, 2021; Sandalio *et al.*, 2023). A pesar de que en las células se producen agua oxigenada y óxido nítrico de manera «natural», químicamente

son moléculas muy reactivas que tienen un electrón desapareado, como es el caso del NO, o son oxidantes, como el H₂O₂ (Romero-Puertas-Puertas *et al.*, 2013; Sandalio *et al.*, 2023). La producción de H₂O₂ surgió al comienzo de la vida aerobia, con la aparición de los primeros organismos fotosintéticos que liberaban O₂. Esta molécula era muy tóxica para la mayoría de los organismos anaerobios (los que podían sobrevivir y multiplicarse en ambientes sin oxígeno), de ahí la necesidad de crear sistemas de protección frente al exceso de O₂ y sus derivados como el H₂O₂ (Koop *et al.*, 2005). No obstante, los organismos aprendieron a convivir con estas moléculas, y a lo largo de la evolución supieron sacar ventaja de su producción utilizándolas como señales de alarma.

¿Por qué es importante regular la abundancia de H_2O_2 y NO en las células?

Estas moléculas, cuando están en exceso, pueden producir daños oxidativos muy importantes en las células animales, de humanos y en los vegetales, y pueden afectar a todas las moléculas, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, llegando a provocar incluso la muerte de las células. Por eso el agua oxigenada se usa como desinfectante de heridas, para eliminar las bacterias que puedan producir infecciones. Por eso, todos los organismos disponen de unos sistemas de defensa antioxidantes que mantienen el equilibrio entre la producción de estas moléculas y su eliminación. Algunos de estos antioxidantes son bien conocidos como la vitamina C, la vitamina E (o tocoferol) o los flavonoides, que se encuadran en los antioxidantes no enzimáticos (tabla 1). Pero también existen otros menos conocidos como la catalasa, las peroxidasas, las peroxirredoxinas, etc., que son antioxidantes enzimáticos (tabla 1, Phua *et al.*, 2021).

Tabla 1. Principales sistemas antioxidantes en plantas.

Enzimáticos	
	Superóxido dismutasas
	Catalasa
	Peroxidasas
	Glutación peroxidasas
	Glutación-S-transferasas
	Tiorredoxinas
	Peroxirredoxinas
No enzimáticos	
	Carotenoides
	Tocoferoles (vitamina E)
	Compuestos fenólicos
	Flavonoides
	Ascorbato (vitamina C)
	Glutación

El agua oxigenada (H_2O_2) y el óxido nítrico (NO)

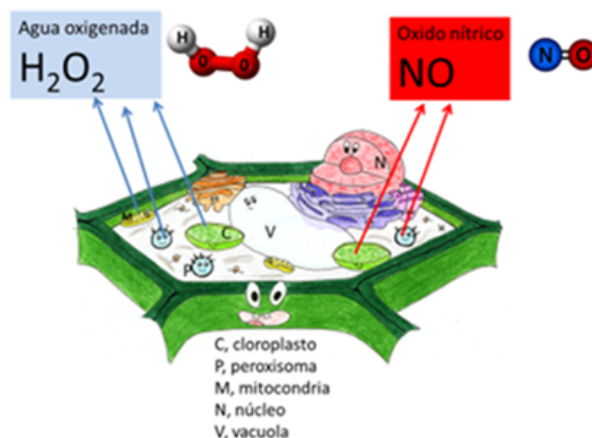


Figura 1. Célula vegetal con los distintos orgánulos donde se producen el agua oxigenada (H_2O_2) y el óxido nítrico (NO). C, cloroplasto; P, peroxisoma; M, mitocondria; N, núcleo; V, vacuola.

H_2O_2 y NO actúan como señales celulares

Precisamente porque están muy controladas, cuando cambia algo en el entorno de la célula por una agresión o factor de estrés que son interpretados como una señal de alarma en la célula, se produce un aumento de H_2O_2 y NO en distintos compartimentos celulares, y mediante reacciones químicas esa señal se transmite hasta el núcleo celular. En el núcleo se procesa la información y se elaboran las órdenes para poder ajustar el funcionamiento de la célula a esa situación por inducción de cambios en la expresión de genes para que se sinteticen antioxidantes y otros sistemas de defensa, y para mejorar la supervivencia frente a esas condiciones adversas (Terrón-Camero *et al.*, 2022; Mittler *et al.*, 2022) (figura 2).

El H_2O_2 puede moverse dentro de la célula y también de célula a célula, por lo que puede actuar como mensajero a largas distancias dentro de la planta (Peláez-Vico *et al.*, 2022). Imaginemos daños ocasionados en la raíz, por un ataque por un hongo o un aplastamiento, que harán que la planta emita señales que han de viajar hacia la parte superior para avisar al resto de la planta, para que se prepare y empiece a desarrollar sus defensas y esté lista cuando llegue el problema a esa zona. Así, el H_2O_2 viajará de unas células a otras hasta llegar a las partes más alejadas, lo que le obliga a atravesar las células mediante poros o canales para alertar al resto de la planta para que pueda defenderse activando las defensas necesarias. Además, cada célula produce más H_2O_2

a su vez. De esa forma, cuando llega la agresión a la parte superior, la planta ya está preparada con las defensas a pleno rendimiento. Si la coordinación y ejecución de todas estas respuestas rápidas es eficiente, la planta estaría «vacunada» frente a ese hongo o aplastamiento (Peláez-Vico *et al.*, 2022). Y si el ataque se produce de nuevo, la zona de la planta que

no ha tenido contacto con el atacante la primera vez responderá más rápido porque «recuerda» gracias a esa vacuna defensiva. En la fisiología vegetal, esa respuesta o «vacunación» se llama aclimatación y consiste en minimizar los efectos de los cambios para aumentar las probabilidades de supervivencia de las plantas (Peláez-Vico, *et al.*, 2022).

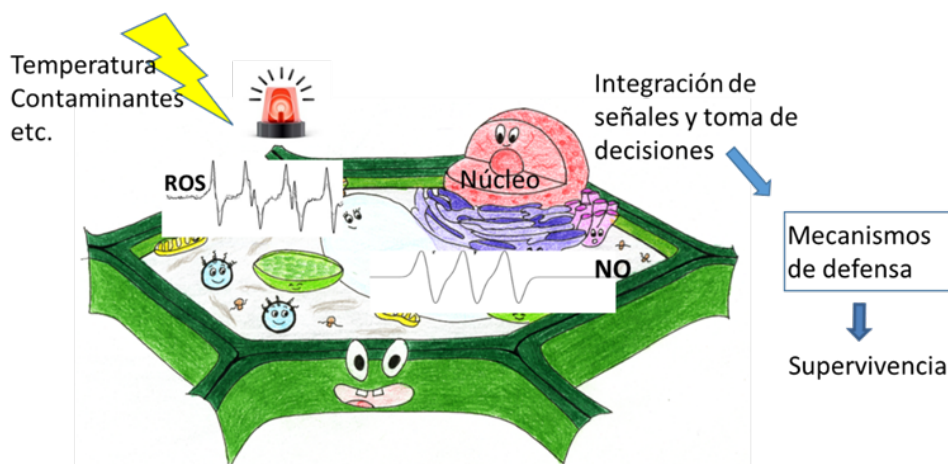


Figura 2. Respuesta de la célula a un estrés externo como altas temperaturas o contaminantes, con un aumento en la producción de agua oxigenada y otras ROS, y óxido nítrico (NO), que transmiten la señal para que se activen mecanismos de defensa para llevar a la supervivencia de la planta.

¿Cómo ejercen su función el H_2O_2 y NO?

El H_2O_2 y el NO pueden reaccionar rápidamente con proteínas para cambiar su función, estabilidad y localización (Sandalio *et al.*, 2019). Esto es lo que se denomina modificaciones postraduccionales de proteínas (PTM, del inglés *post-translational modifications*). Así, el H_2O_2 oxidará las proteínas de una forma reversible mediante las PTM por sulfenilación, sulfinilación y formación de puentes disulfuro, o irreversiblemente mediante sulfonilación de proteínas, lo que conduce a que pierdan su actividad (figura 3; Sandalio *et al.*, 2019; Young *et al.*, 2019). El NO modificará las proteínas por nitrosilación y nitración (figura 3; Romero-Puertas *et al.*, 2013; Sandalio *et al.*, 2019). De esta forma se permiten cambios rápidos en la funcionalidad de las proteínas y, por tanto, en el metabolismo de la célula, por lo que actúan como interruptores, abierto o cerrado, activo o inactivo, lo que aumenta la flexibilidad de las rutas metabólicas y una respuesta más rápida de la célula a los cambios de su entorno (Young *et al.*, 2019; Romero-Puertas *et al.*, 2013). Estos cambios químicos dependientes de H_2O_2 y NO son los responsables también de la activación de los factores de transcripción (FT). Los FT, son proteínas responsables de la regulación dinámica de la expresión génica. Los FT se pueden regular a

través de cambios redox de las cisteínas que pueden producir cambios en su estructura que conducen a su activación/desactivación, cambios en la localización del FT del citosol al núcleo, cambios en la unión a moléculas reguladoras, o incluso su degradación, afectando finalmente a su unión al DNA (He *et al.*, 2018).

Sin embargo, no sabemos muy bien cómo las células descifran estas señales, cuáles son esos códigos, ni cuál es la función del H_2O_2 y del NO en la identificación de situaciones adversas o de estrés, y necesitamos entender los mecanismos de defensa de las plantas. ¿Para qué? Para entender cómo mejorar su resistencia en condiciones adversas de sequía, altas temperaturas, suelos contaminados por metales o infección por patógenos, bacterias y hongos, y de esa forma mejorar la productividad de nuestros cultivos. ¿Por qué? Porque en la situación en la que nos encontramos de cambio climático con un aumento de la temperatura, la falta de lluvia, o las lluvias torrenciales y la contaminación derivada del uso de combustibles, vehículos, plásticos, la excesiva industrialización, etc., resulta adversa para los cultivos al ocasionar pérdidas económicas y de producción muy considerables. Por tanto, no solo afecta a la economía, sino también a la disponibilidad de alimentos para la humanidad, una situación que se agrava mucho más en los países poco desarrollados y con climas extremos.

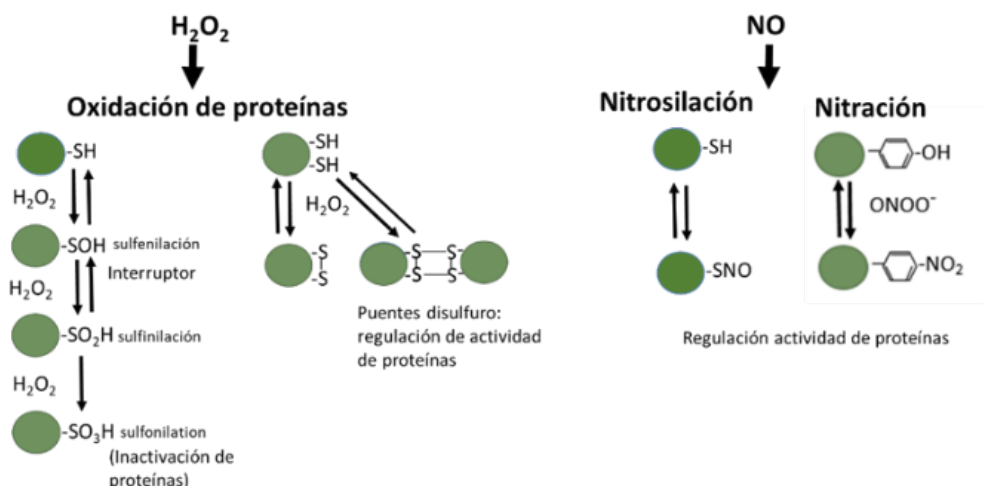


Figura 3. Modificaciones de proteínas dependientes de H_2O_2 y NO . El NO produce nitrosilación de las proteínas y una forma derivada, el peroxinitrito ($ONOO^-$), produce nitración de proteínas (esquema modificado de Sandalio *et al.*, 2023).

También es importante estudiar la comunicación entre los distintos orgánulos de la célula y cómo estos procesos regulan la defensa celular. Podemos imaginar la célula como una gran empresa en la que las distintas funciones están divididas entre distintos orgánulos, pero una perfecta coordinación entre todos es esencial para el buen funcionamiento y la productividad de la empresa. De manera que unos orgánulos pueden influir sobre otros y como resultado de estas interacciones el núcleo, que es la dirección de la empresa, puede tomar decisiones (figura 2) (He *et al.*, 2018; Phua *et al.* 2021, Terrón-Camero *et al.*, 2022). Así, los resultados avalan que los cloroplastos pueden transferir el H_2O_2 al núcleo (Expósito-Rodríguez *et al.*, 2017; Mullineaux *et al.*, 2019). La alteración de la producción de H_2O_2 en un orgánulo modificará el estado redox de otros orgánulos (Sandalio *et al.*, 2021).

Daños oxidativos y autofagia

Además de aumentar las defensas en situaciones adversas, a veces el núcleo tiene que decidir sacrificar moléculas u orgánulos dañados, en muchas ocasiones por un exceso de oxidación y acumulación de H_2O_2 . Las células, tanto de animales como vegetales, tienen un mecanismo para eliminar componentes celulares cuando no funcionan bien, que denominamos autofagia (figura 4) (Avin-Wittenberg *et al.*, 2018; Calero-Muñoz *et al.*, 2019; Olmedilla y Sandalio, 2019). Sería como el sistema de limpieza, recogida de basura y reciclado. El H_2O_2 , entre otras moléculas, regula este proceso al señalar los orgánulos o proteínas dañados para su degradación. Este proceso es esencial

para el correcto funcionamiento de las células tanto animales como vegetales, por lo que es importante conocer los compuestos que regulan este proceso. La autofagia se activa cuando las plantas sufren hambre de nutrientes y en respuesta a patógenos y muchos más procesos aún por estudiar. Pero aún necesitamos conocer mejor los mecanismos para entender su utilidad para desarrollar cultivos más resistentes a la falta de nutrientes, como sucede en los suelos pobres o contaminados que se usan para cultivos en algunos países.

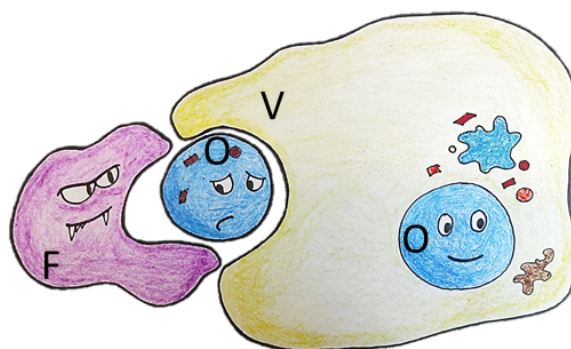


Figura 4. Los orgánulos (O) o las proteínas oxidadas o dañadas son reconocidas por el sistema de autofagia, que lo rodea con el fagóforo (F) y lo lleva a la vacuola (V), donde se degrada para recuperar componentes celulares de interés que puedan reciclarse.

Respuesta hipersensible

Cuando las plantas son infectadas por patógenos, las células utilizan el H_2O_2 y el NO para evitar que se

dispersen por los tejidos y produzcan daños mayores, gracias a un mecanismo denominado respuesta hipersensible. En este tipo de respuesta la planta prefiere sacrificar las células cercanas al punto de infección para evitar que progrese la infección y de esa forma las bacterias mueren y la planta sobrevive (figura 5).

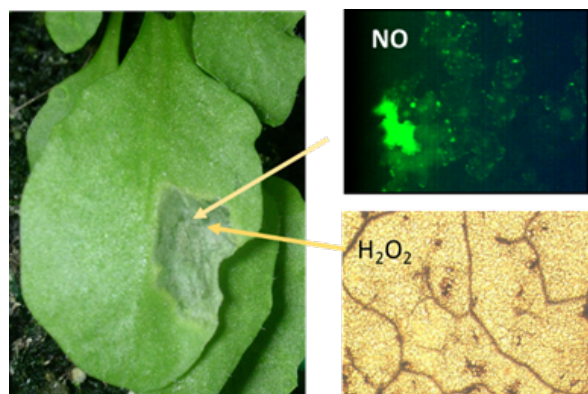


Figura 5. Respuesta hipersensible de la planta a la infección por *Pseudomonas*. Se induce la producción de H_2O_2 (marrón, tinción con diaminobencidina) y el NO (verde, visualización con diaminofluoresceína).

Conclusión

El H_2O_2 y el NO son moléculas simples de gran importancia para la célula porque identifican factores adversos y desencadenan una respuesta rápida con modificaciones químicas de las proteínas o cambios en la expresión de genes. Esto aporta una mayor plasticidad metabólica, incrementa las defensas celulares, la autofagia, etc., y, en definitiva, conduce a la aclimatación de la planta para incrementar su supervivencia y permitir así la producción de semillas (figura 6).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos PID2021-122280NB-I00 y RED2018-102407-T del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, la Agencia Estatal de Investigación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

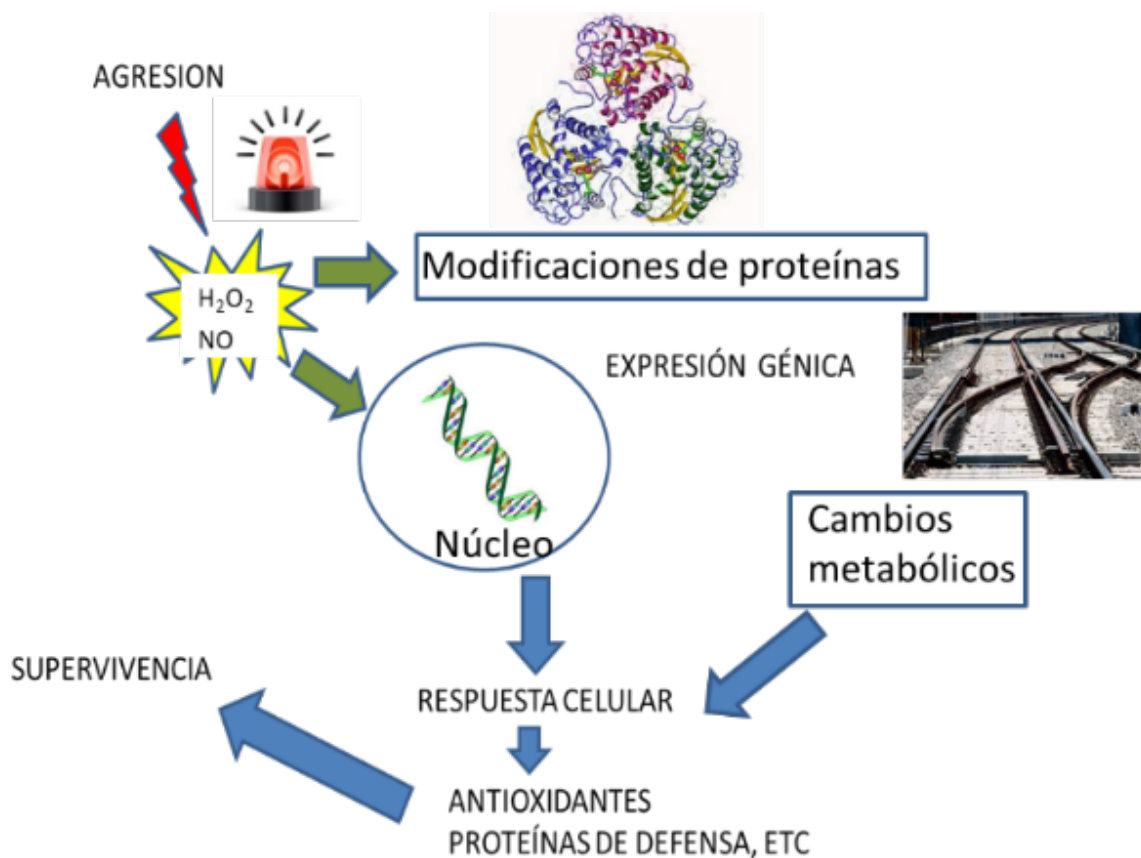


Figura 6. Esquema de producción de H_2O_2 y NO en respuesta a los daños bióticos (por insectos, bacterias, virus...) o abióticos (sequía, salinidad, altas temperaturas...) y su importancia en la modificación de proteínas y la expresión génica. Gracias a estos cambios se incrementan las defensas de la célula para permitir la supervivencia en condiciones adversas.

Referencias

- [1] Avin-Wittenberg T *et al.* (2018). Autophagy-related approaches for improving nutrient use efficiency and crop yield protection. *Journal of Experimental Botany*, 69: 1335–1353, doi: 10.1093/jxb/ery069.
- [2] Calero-Muñoz N., *et al.* (2019) Cadmium induces reactive oxygen species-dependent pexophagy in *Arabidopsis* leaves. *Plant and Cell Environment* 42:2696–2714. doi: 10.1111/pce.13597
- [3] Expósito-Rodríguez M., *et al.* (2017) Photosynthesis-dependent H₂O₂ transfer from chloroplasts to nuclei provides a high-light signalling mechanism. *Nature Communication* 29;8(1):49. doi: 10.1038/s41467-017-00074-w.
- [4] He H., *et al.* (2018) Redox-dependent control of nuclear transcription in plants. *Journal of Experimental Botany* 69: 3359–3372, 2018 doi:10.1093/jxb/ery130
- [5] Kopp R.E *et al.*, (2005). The Paleoproterozoic snowball Earth: A climate disaster triggered by the evolution of oxygenic photosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102 (32): 11131–11136. doi:10.1073/pnas.0504878102.
- [6] Mittler R, *et al.* (2022) Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 23: 663–679, doi.org/10.1038/s41580-022-00499-2
- [7] Mullineaux P.M *et al.*, (2019) Spatial chloroplast-to-nucleus signalling involving plastid–nuclear complexes and stromules. *Philosophical Transaction B375*: 20190405. doi.org/10.1098/rstb.2019.0405
- [8] Olmedilla A y Sandalio LM (2019) Selective Autophagy of Peroxisomes in Plants: From Housekeeping to Development and Stress Responses. *Frontiers in Plant Sciences* 10:1021. doi: 10.3389/fpls.2019.01021
- [9] Peláez-Vico MÁ, *et al.*, (2022) ROS and redox regulation of cell-to-cell and systemic signaling in plants during stress. *Free Radical Biology and Medicine* 193: 354–362, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.10.305
- [10] Phua SY *et al.* (2021). Reactive oxygen species and organellar signaling. *Journal of Experimental Botany* 72, 5807–5824. doi: 10.1093/jxb/erab218.
- [11] Romero-Puertas MC, *et al.* (2013). Protein S-nitrosylation in plants under abiotic stress: an overview. *Frontiers in Plant Science* 4, 373. doi.org/10.3389/fpls.2013.00373
- [12] Sandalio L.M *et al.* (2019). Multilevel Regulation of Peroxisomal Proteome by Post-Translational Modifications. *International Journal of Molecular Sciences* 20, 4881; doi:10.3390/ijms20194881
- [13] Sandalio L.M.,*et al.* (2023) Reactive oxygen species- and nitric oxide-dependent regulation of ion and metal homeostasis in plants. *Journal of Experimental Botany* 74(19):5970–5988. doi: 10.1093/jxb/erad349
- [14] Smirnoff N y Arnaud D. (2019). Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New Phytologist* 221, 1197–1214. doi: 10.1111/nph.15488
- [15] Terrón-Camero LC, *et al.* (2022) Gene network downstream plant stress response modulated by peroxisomal H₂O₂. *Frontiers in Plant Science* 13:930721. doi: 10.3389/fpls.2022.930721
- [16] Young D *et al.* (2019). Protein promiscuity in H₂O₂ signaling. *Antioxidant and Redox Signalling* 30: 1285–1324. doi: 10.1089/ars.2017.7013